

KATA PENGANTAR

Segala puji serta syukur penulis panjatkan kepada Allah S.W.T atas berkat rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan tugas akhir ini, dengan judul **Perbandingan Produksi Kolagen Dari Sisik dan Tulang Ikan Gurami (*Osphronemus gouramy*) Secara Kimia dan Enzimatis.**

Selama penyusunan laporan tugas akhir ini banyak sekali bantuan dan dorongan dari berbagai pihak. Maka, pada kesempatan ini penulis tidak lupa mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Kedua orang tua, Bapak dan Emah (Adjidji dan Enti Suparti) yang selalu memberikan doa, motivasi, dan dukungan secara moral maupun moril yang tiada henti kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan ini.
2. Ir. Hervelly, MP selaku pembimbing utama yang bersedia memberikan bimbingan dan saran kepada penulis.
3. Ir. H. Willy Pranata Widjaja, M.Si., Ph.D selaku pembimbing pendamping yang bersedia memberikan bimbingan dan saran kepada penulis.
4. Istiyati Inayah S.Si, M.Si, selaku penguji yang selalu memberikan kritik , saran dan bimbingan.
5. Dra. Hj. Ela Turmala Sutrisno. M.Sc., selaku koordinator tugas akhir yang telah bersedia memberikan saran kepada penulis
6. Taupik Rohmasnyah, M,Pd., Dikdik Humardani Paragan, SH., Ratno Pajar Pariyuda, S.Ip. (Kakak) dan Akmal Aulia Candra (Adik) serta Teh Erlis Endah Purnama R, Teh Asri Yuliana, Teh ErlinMerlina, Nabilla Aliifa Syahier, Ahmad FathiyaqanAbqary Syahier, Meidina Sophia Kamilah, dan Abidzar Idham Kamil

yang selalu memmberikan dukungan,semangat, dan hiburan ketika penulis mengerjakan tulisan ini.

7. Gugum Gumilar Wijaya, Indra Budi Pratama, Angga Mega Putra, Mohamad Galih P, Fajar Nugraha, Fajar Eka Prabawa, Yogie Ibrahim, Satria Imam Saputra, Rinaldi Prawira Budiman, Ansori Abdurrahman, Irsa Akmal Fauzan, Asep Saepul Kurnia, Aditya Bayu Devangga, Arfin Rahmat, Agung Setia, M Rifai Tarmizi, Syaiful Ramadhan, Yunus Septiawan, Andi Pratama, yang telah menjadi sahabat penulis selama ini dan membantu penulis dalam menyelesaikan masalah yang ada.

8. Linda Yani yang terus memberikan dukungan dan doa setiap penulis melakukan penulisan ini.

9. Teman teman Teknologi Pangan 2011, Kosan Wisma Rama, Asisten Biokimia Pangan dan seluruh pihak yang membantu penulis tanpa bisa disebutkan satu persatu terimakasih atas doa dan dukungannya.

Penulis menyadari bahwa laporan yang dibuat belum sempurna, sehingga penulis mengharapkan kritik dan saran yang sifatnya untuk membangun memperbaiki kekurangan pada laporan tugas akhir ini. Penulis berharap semoga laporan ini dapat bermanfaat untuk penulis khususnya dan untuk kita secara umumnya. Semoga Allah SWT membalas semua kebaikan yang telah kita perbuat.

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR.....	i
DAFTAR ISI.....	iii
DAFTAR GAMBAR.....	v
DAFTAR TABEL.....	vi
DAFTAR LAMPIRAN.....	vii
ABSTRAK.....	viii
ABSTRACT.....	ix
I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Identifikasi Masalah.....	5
1.3. Maksud dan Tujuan Penelitian.....	6
1.4. Manfaat Penelitian.....	6
1.5. Kerangka Pemikiran.....	6
1.6. Hipotesis Penelitian.....	11
1.7. Tempat dan Waktu Penelitian.....	11
II TINJAUAN PUSTAKA.....	12
2.1. Ikan Gurami.....	12
2.2. Enzim Protease.....	18
2.3. Kolagen.....	20
2.4. Asam Asetat.....	23
2.5. Asam Amino.....	25
III METODOLOGI PENELITIAN.....	27
3.1. Bahan Dan Alat Penelitian.....	27
3.1.1. Bahan-bahan yang digunakan.....	27
3.1.2. Alat-alat yang digunakan.....	27
3.2. Metode Penelitian.....	27
3.2.1. Penelitian.....	28
3.2.2. Rancangan Perlakuan.....	28
3.2.3. Rancangan Analisis.....	29
3.2.4. Rancangan Respon.....	29
3.3. Deskripsi Percobaan.....	30
3.3.1. Percobaan Penelitian.....	30

IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	38
4.1. Hasil dan Pembahasan.....	38
4.1.1. Analisis Kadar Abu.....	38
4.1.2. Analisis Kadar Air.....	41
4.1.3. Analisis Kadar Protein.....	43
4.1.4. Analisis nilai pH.....	46
4.1.5. Analisis Kadar Rendemen.....	47
V KESIMPULAN DAN SARAN.....	50
5.1. Kesimpulan.....	50
5.2. Saran.....	51
DAFTAR PUSTAKA	52
LAMPIRAN	57

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Ikan Gurami	13
2. Serbuk Kolagen	21
3. Diagram Alir pembuatan kolagen ikan gurami menggunakan ekstraksi kimia pada penelitian utama.....	34
4. Diagram alir pembuatan kolagen ikan gurami menggunakan enzimatis pada penelitian utama	36
5. Diagram alir perbandingan hasil ekstraksi	37

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komposisi kandungan pada sisik ikan gurami.....	16
2. Syarat mutu kolagen dari sisik ikan	22

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Prosedur Analisis Kadar Abu.....	57
2. Prosedur Analisis Kadar Air	58
3. Prosedur Analisis Kadar Protein..	59
4. Prosedur Analisis Rendemen.....	60
5. Pengujian Nilai pH.....	61
6. Hasil Perhitungan Kadar Abu.....	62
7. Hasil Perhitungan Kadar Protein.....	68
8. Hasil Perhitungan Kadar Air.....	70
9. Hasil Perhitungan Rendemen.....	71
10. Hasil Perhitungan Nilai pH.....	71

I PENDAHULUAN

Bab ini menguraikan mengenai : (1) Latar belakang penelitian, (2) Identifikasi Masalah, (3) Maksud dan Tujuan Penelitian, (4) Manfaat Penelitian, (5) Kerangka Pikiran, (6) Hipotesa, dan (7) Waktu dan Tempat Penelitian.

1.1. Latar Belakang

Industri pengolahan ikan semakin pesat dengan bertambahnya jumlah produksi ikan di Indonesia khususnya perikanan budidaya. Ikan gurami salah satu produk perikanan budidaya yang produksi setiap tahunnya meningkat. Produksi ikan gurami di Indonesia pada tahun 2008 sekitar 36,636 ton, sedangkan pada tahun 2009 meningkat menjadi 46,254 ton. Tahun 2010 produksi ikan meningkat menjadi 56.889 ton dan pada tahun 2011 menjadi 64,652 ton sedangkan tahun 2012 meningkat menjadi 84,681 ton dan tahun 2013 menjadi 94,605 ton. Jumlah konsumsi ikan di indonesia dari tahun ke tahun semakin meningkat. Pada tahun 2008 jumlah konsumsi ikan per kapita adalah 28,00 dan tahun 2009 adalah 29,08 sedangkan tahun 2010 naik menjadi 30,48. Tahun 2011 konsumsi ikan per kapita adalah 32.25 dan pada tahun 2012 adalah sebesar 33,89. Jumlah konsumsi ikan meningkat menjadi 33,89 kg/kapita/tahun pada tahun 2012. Pada tahun 2013 meningkat menjadi 35,14. Meningkatnya jumlah konsumsi ikan di Indonesia akan berakibat terhadap tingginya jumlah limbah yang dihasilkan, diantaranya yaitu limbah sisik dan tulang dari ikan (Kementerian Kelautan dan Perikanan, 2013).

Semakin menjamurnya berbagai industri di Indonesia menyebabkan sering terjadinya pencemaran, baik berupa pencemaran air, udara dan tanah. Adanya pencemaran tersebut pada akhirnya yang menjadi korban adalah makhluk hidup dan lingkungan yang berada di sekitar kawasan industri tersebut (Hikamah, 2012).

Kolagen merupakan komponen struktural utama dari jaringan pengikat putih (*white connective tissue*) yang meliputi hampir 30% dari total protein pada jaringan organ tubuh vertebrata dan invertebrata (Setiawati, 2009). Sebelumnya sumber kolagen menggunakan ekstrak serabut kolagen dari ternak, babi, ayam, mamalia, dan hewan unggas. Namun baru-baru ini, penyakit menular pada sapi serta hewan unggas sering terjadi secara terus-menerus, seperti *Bovine Spongiform Encephalopathy* atau sapi gila, dan flu burung, sehingga keamanan kolagen dari stok hidup dan unggas mengalami masalah keamanan (Herng Wu dan Chai, 2007).

Menurut Kastaman dan Kramadibrata (2007), berdasarkan konsep *zero waste system* dalam program Silarsatu (Sistem Pengelolaan Reaktor Sampah Terpadu) menyebutkan bahwa limbah bisa dijadikan pupuk alami atau kompos yang ramah lingkungan. Secara umum ikan utuh mengandung 20-25% daging yang dapat dimakan dan 75-80% merupakan limbah yang dapat diolah dari berat total ikan. Limbah yang dapat diolah tersebut didominasi oleh kepala, isi perut, tulang, kulit, dan sisik. Sebagian dari limbah tersebut diolah menjadi tepung ikan atau pupuk, namun sebagian besar dibuang tanpa pemanfaatan yang lebih berguna (Hsiung Pan, 2010).

Sisik dan tulang ikan merupakan salah satu sumber alternatif dalam pembuatan kolagen. Penelitian ini lebih difokuskan pada ikan air tawar yaitu gurami. Sisik dan tulang yang digunakan berasal dari ikan gurami karena sisik dari ikan gurami mempunyai jumlah yang lebih banyak pada permukaan badan ikan daripada ikan tawar yang lain. Selain itu sisik dan tulang ikan gurami mempunyai komposisi kimia yang tinggi yaitu protein dibandingkan dengan sisik ikan lainnya. Berdasarkan penelitian Nagai *et al.*, (2004), komponen yang terdapat pada sisik ikan antara lain 70% air, 27% protein, 1% lemak, dan 2% abu. Senyawa organik terdiri dari 40-90% pada sisik ikan dan selebihnya merupakan kolagen. Komposisi pada tulang ikan yaitu kadar air sebesar 7,03 %, kadar abu sebesar 0,93 %, kadar lemak sebesar 1,63 %, dan kadar protein sebesar 84,85 % (Harris, 2008).

Sumber kolagen tinggi terdapat pada sisik ikan berdasarkan bobot kering yaitu pada ikan sarden sebesar 50,9 %, *red sea bream* 37,5 %, dan *Japanese sea bass* 41,0 % (Nagai T, 2004).

Produksi kolagen dalam negeri sendiri sampai saat ini masih belum optimal. Data menyebutkan, bahwa pada tahun 2003 Indonesia masih mengimpor lebih dari 6200 ton kolagen dengan harga per gram mencapai kurang lebih US \$ 1. Kolagen dari sisik ikan merupakan kolagen derivat dari ikan, dan diekstrak dari sisik ikan maka tidak perlu ada kekhawatiran terhadap penyakit-penyakit mamalia seperti penyakit sapi gila maupun virus flu burung (Hartati, 2010).

Pembuatan kolagen dapat dilakukan melalui proses ekstraksi dan ada dua cara ekstraksi yang dapat dilakukan, yaitu ekstraksi konvensional menggunakan solvent serta ekstraksi enzimatis menggunakan enzim protease (Hartati, 2010).

Ekstraksi adalah suatu metode operasi yang digunakan dalam proses pemisahan suatu komponen dari campurannya dengan menggunakan sejumlah massa bahan (*Solvent*) sebagai materi pemisah. Apabila komponen yang akan dipisahkan (*Solute*) berada dalam fasa padat, maka proses tersebut dinamakan *leaching*, sedangkan istilah ekstraksi umum digunakan jika *solute* berada dalam fasa cair (Hartati, 2010).

Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode ekstraksi maserasi yaitu salah satu metode ekstraksi dingin. Ekstraksi maserasi dilakukan dengan cara merendam selama beberapa waktu, umumnya 24 jam dengan menggunakan satu atau campuran pelarut. Maserasi bertujuan untuk menarik zat-zat berkhasiat yang tahan pemanasan maupun yang tidak tahan pemanasan. Secara teknologi maserasi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi dilakukan dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan atau kamar (Departemen Kesehatan RI, 2000).

Pada proses ekstraksi enzimatis enzim yang digunakan adalah enzim protease, karena enzim protease adalah enzim yang berfungsi untuk memecah protein dengan cara menghidrolisa ikatan peptida yang menghubungkan asam amino dalam rantai polipeptida. Enzim protease memecah protein dengan cara merusak asam amino yang berada di ujung rantai dan dengan merusak ikatan

peptida yang ada di dalam protein (Hartati, 2010). Asam asetat digunakan untuk merubah materi kimia yang ada didalam sisik dan tulang ikan dimana pilinan heliks rantai kolagen akan terurai dari yang berbentuk heliks tiga rantai menjadi rantai yang sederhana (Simanjuntak, 2013).

Menurut Nurhayati (2013), mengenai ekstraksi dan karakterisasi kolagen larut asam dari kulit ikan nila (*oreochromis niloticus*) menjelaskan bahwa asam amino glisin mempunyai nilai yang dominan baik pada kolagen dengan perlakuan 0,5 M dan 1,5 M yaitu berturut-turut sebesar 5,32 dan 2,66 %w/w dari total asam amino. Tingginya konsentrasi asam asetat yang digunakan saat ekstraksi ternyata berpengaruh terhadap proporsi asam amino. Asam amino pada kolagen dengan perlakuan asam 1,5 M memiliki proporsi yang lebih rendah dibanding 0,5 M. Hal itu terjadi karena penggunaan asam dengan konsentrasi yang lebih tinggi dapat memicu terjadinya substitusi ion negatif pada garam dengan ion positif pada asam lebih cepat, sehingga dapat memutuskan struktur protein

1.2. Identifikasi Masalah

Berdasarkan uraian yang terdapat pada latar belakang, maka masalah yang dapat diidentifikasi adalah sebagai berikut :

- a. Bagaimana pengaruh konsentrasi enzim protease dan konsentrasi asam asetat terhadap karakteristik serbuk kolagen dari sisik dan tulang ikan gurami.
- b. Bagaimana pengaruh ekstraksi kimia menggunakan asam asetat dan ekstraksi enzimatik menggunakan enzim protease terhadap karakteristik serbuk kolagen dari sisik dan tulang ikan gurami.

1.3. Maksud dan Tujuan Penelitian

Maksud dari penelitian ini adalah untuk menetapkan cara yang lebih baik antara ekstraksi menggunakan enzimatis dan ekstraksi menggunakan kimia.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan perlakuan yang baik pada ekstraksi kolagen dari sisik dan tulang ikan gurami.

1.4. Manfaat Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk memanfaatkan sisik dan tulang ikan gurami sebagai limbah menjadi produk yang mempunyai nilai ekonomis tinggi dan juga untuk mengurangi pencemaran terhadap lingkungan.

1.5. Kerangka Pemikiran

Kolagen merupakan material yang mempunyai kekuatan rentang dan struktur yang berbentuk serat. Protein jenis ini banyak terdapat dalam vertebrata tingkat tinggi. Hampir sepertiga protein didalam tubuh vertebrata berada sebagai kolagen. Kolagen juga merupakan komponen utama dalam serat tulang, gigi, tulang rawan, lapisan kulit dalam, tendon, dan tulang rawan. Kolagen ada dalam semua organ yang menampilkan kekuatan dan kekakuan (Lehninger, 2010).

Ikan dapat digunakan sebagai bahan baku pembuatan gelatin. Hal ini dikarenakan pada bagian tertentu dari ikan, misalnya tulang dan kulit, terdapat kolagen yang dengan penambahan perlakuan asam atau alkali serta proses pemanasan menyebabkan kolagen tersebut dapat dikonversi menjadi gelatin. Kandungan kolagen dari ikan keras (Teleostei) berkisar dari 15-17 %, sedangkan pada ikan bertulang rawan (Elasmobranchi) berkisar antara 22-24 % (Nurilmala, 2004).

Rendemen sisik gurami dengan bobot gurami 1500–2000 gram, berkisar antara 3,0-5,7 %. Sisik gurami mengandung kadar air berkisar 30,0–36,8 %, abu 18,7-26,3 %, lemak 0,1-1,0 %, protein 29,8-40,9 %, karbohidrat *by differences* 2,0-5,7 %, kitin 0,4-3,7 %, kalsium 5,0-8,6 % (Yogaswari, 2009).

Peran dan aktivitas protein dalam proses biologis antara lain sebagai katalis enzimatik, bahwa hampir semua reaksi kimia dalam sistem biologi dikatalis oleh makromolekul yang disebut enzim yang merupakan satu jenis protein. Sebagian reaksi seperti hidrasi karbondioksida bersifat sederhana reaksi lainnya seperti replikasi kromosom (Siddik, 2009). Enzim mempunyai daya katalitik yang besar, umumnya meningkatkan kecepatan reaksi sampai jutaan kali.

Ekstraksi kolagen dilakukan dengan perendaman dalam asam asetat yang dimodifikasi (Muyonga J.H, 2004).

Menurut Nurhayati (2013), dalam penelitiannya mengenai ekstraksi dan karakterisasi kolagen larut asam darikulit ikan nila (*oreochromis niloticus*) menjelaskan bahwa ekstraksi kolagen yang dilakukan melalui perendaman dalam asam asetat dengan dua variasi konsentrasi yaitu 0,5 dan 1,5 M. Parameter yang diamati yaitu gugus fungsi, komposisi asam amino, suhu denaturasi, dan kemampuan mengembang kolagen. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan asam asetat 0,5 M memiliki komposisi asam amino dan suhu denaturasi yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan asam asetat 1,5 M. Namun demikian, kolagen pada perlakuan asam asetat 1,5 M ternyata memiliki kemampuan mengembang lebih cepat (15 menit) dibandingkan perlakuan asam asetat 0,5 M (60 menit).

Enzim termasuk dalam kategori protein. Cara kerja enzimpun terbilang unik karena hanya mempengaruhi zat tertentu. Misalnya, enzim protease hanya bereaksi terhadap protein dengan mengubahnya menjadi asam amino atau enzim amilase yang hanya bereaksi pada zat tepung dan mengubahnya menjadi glukosa (Supekta, 2011).

Menurut Witono (2007), ekstraksi *virgin coconut oil* (VCO) secara enzimatis menggunakan protease dari tanaman biduri (*Calotropis gigantea*) dengan variasi konsentrasi 0,00; 0,05; 0,10 and 0,15% dan lamainkubasi 2; 3 dan 4 jam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa protease biduri efektif digunakan untuk mengekstrak VCO. Semakin tinggi konsentrasi protease biduri, viskositas VCO semakin meningkat. Kualitas VCO yang diproduksi secara enzimatis lebih baik daripada VCO yang diproses secara fermentasi spontan ditinjau berdasarkan parameter bilangan asam dan % FFA (*free fatty acid*).

Ekstraksi enzimatis pada prinsipnya sama dengan ekstraksi konvensional. Penggunaan enzim disini berfungsi untuk mengambil zat yang akan diekstrak, dengan demikian tidak diperlukan lagi pelarut khusus (*solvent*) dalam proses ekstraksi. Pelarut yang biasanya ditambahkan dalam ekstraksi enzimatis adalah air (Hartati, 2010).

Menurut Kasim (2013), tentang penelitian mengenai ekstraksi kolagen tulang rawan ikan pari (*Himantura gerrardi*) dan kulit ikan tuna (*Thunnus sp*) menggunakan variasi jenis larutan asam diketahui bahwa penelitian ini bertujuan untuk menentukan jenis asam yang efektif menghasilkan kolagen. Metode penelitian meliputi perlakuan awal yaitu pembersihan, perendaman masing-

masing 3 x 24 jam dalam tiga larutan asam yaitu, asam asetat 0,5 N; asam sitrat 0,5 N dan asam klorida 0,5 N dilanjutkan dengan ekstraksi dan elektroforesis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rendemen kolagen basah yang diperoleh pada masing-masing pelarut pengestraksi asam asetat, asam sitrat, dan asam klorida sebesar 0,1 % pada ikan pari sedangkan pada ikan tuna 1,2 %, 0,7 % dan 0,2 %. Hasil tersebut menunjukkan bahwa semua pelarut asam yang dipakai memiliki efektifitas yang sama pada ikan pari sedangkan pada ikan tuna paling tinggi diperoleh pada penggunaan pelarut asam asetat.

Menurut Imama (2003), dalam penelitiannya mengenai Pengambilan minyak ikan bandeng (*Chanos-chanos*) menggunakan n-heksana dengan bantuan papain menjelaskan bahwa proses penambahan enzim dikontrol oleh pH, kadar enzim, dan temperatur. Papain merupakan enzim yang stabil, tahan terhadap perubahan pH dan suhu yang besar, memiliki pH optimum 5-7 dan suhu optimum 28⁰C. Menurut Garbawati (2006), mengenai ekstraksi minyak kelapa secara enzimatik menggunakan ekstrak kasar diperoleh kondisi optimum untuk mengekstrak minyak kelapa dari 100 ml santan adalah jumlah enzim 1,20 gram, pH santan 5,9, suhu inkubasi 55⁰C, dan waktu inkubasi 20 jam, sedangkan menurut Zufahair dan Handayani (2008), dengan penelitiannya mengenai pemanfaatan kulit batang ubi kayu sebagai sumber enzim peroksidase untuk penurunan kadar fenol diketahui bahwa waktu dan kadar papain optimum yang diperoleh dari penelitian ini adalah 60 menit dan 6 mg/g dengan suhu inkubasi 28⁰C dan pH 4,4. Perbedaan ini terjadi karena aktivitas enzim dipengaruhi oleh

konsentrasi substrat, jumlah enzim, pH, waktu kontak, dan suhu (Zusfahair dan Handayani, 2008).

Kolagen mengandung kira-kira 3-5% glisin dan kira-kira 11 % alanin. Persentasi asam amino ini agak luar biasa tinggi, tetapi yang lebih menonjol adalah kandungan prolin dan 4-hidroksiprolin yang tinggi, yaitu asam amino yang jarang ditemukan pada protein selain pada kolagen dan elastin. Bersama-sama, prolin dan hidroksiprolin mencapai kira-kira 21 persen dari residu asam amino pada kolagen (Siddik, 2009).

Karakterisasi jenis asam amino dilakukan untuk mengetahui jenis asam amino yang terdapat pada kolagen (Dunn, 2006). Selain gugus fungsi, komposisi asam amino juga menentukan karakteristik kolagen. Kolagen merupakan protein fibrin (protein berbentuk serabut) yang tersusun atas beberapa asam amino. Pada umumnya glisin menjadi asam amino penyusun kolagen terbanyak (Muyonga J.H 2004).

Proses pembuatan kolagen melalui beberapa tahapan dan akan terjadi perubahan sifat fisika dan kimia. Perubahan fisika pada pembuatan kolagen terlihat pada saat kulit direndaman dalam larutan NaOH yang semula tipis menjadi tebal dan warna kulit menjadi bening. Perubahan bentuk kolagen, sebelum dikeringkan kolagen berwujud endapan dan setelah dikeringbekukan dengan *freeze-drier* menjadi padatan juga merupakan perubahan fisika. Perubahan kimia terlihat dari adanya perubahan warna kulit, pembentukan endapan baru, perubahan bau, perubahan pH yang dihasilkan dari proses perendaman kulit dalam larutan kimia (NaOH, CH₃COOH dan NaCl) menghasilkan kolagen yang

merupakan hasilreaksi antara bahan yang terkandung dalam kulit dengan larutan kimia (NaOH, CH₃COOH dan NaCl) (Simanjuntak, 2013).

1.6. Hipotesis Penelitian

Berdasarkan kerangka pemikiran yang telah diuraikan di atas, maka hipotesis yang dapat diajukan sebagai berikut :

1. Diduga bahwa konsentrasi enzim protease dan konsentrasi asam asetat berpengaruh terhadap karakteristik serbuk kolagen dari sisik dan tulang ikan gurami.
2. Diduga bahwa ekstraksi kimia dan ekstraksi enzimatis berpengaruh terhadap karakteritik serbuk kolagen dari sisik dan tulang ikan gurami.

1.7. Tempat dan Waktu Penelitian

Waktu penelitian ini adalah bulan pada bulan Oktober 2015. Tempat penelitian berada di Laboratorium Penelitian Teknologi Pangan Universitas Pasundan Bandung.

II TINJAUAN PUSTAKA

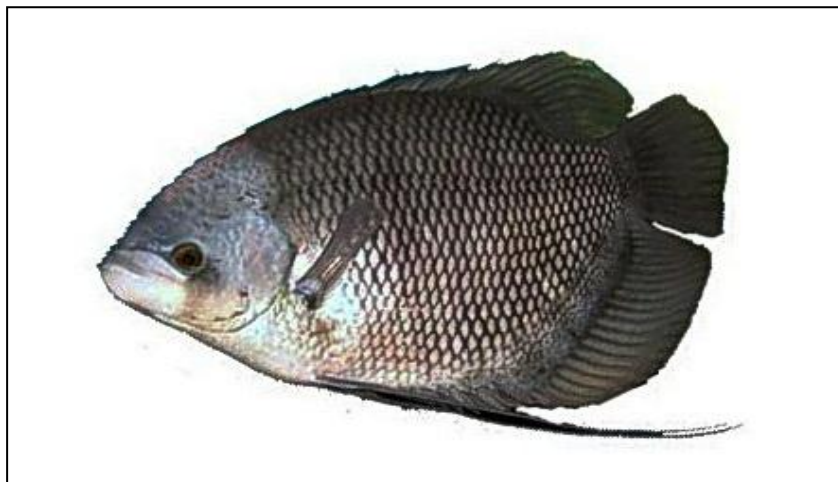
Bab ini menguraikan mengenai : (1) Ikan Gurami, (2) Kolagen, (3) Asam Asetat, (4) Enzim Protease, dan (5) Asam Amino.

2.1. Ikan Gurami

Ikan Gurami (*Osphronemus goramy*) adalah sejenis ikan air tawar yang populer dan disukai sebagai ikan konsumsi di Asia Tenggara dan Asia Selatan. Ikan gurami juga di negara-negara lainnya gurami sering dipelihara dalam akuarium. Ikan gurami umumnya dikenal dengan nama gurami, ikan ini juga memiliki beberapa sebutan lokal seperti *gurami* untuk orang sunda, *guramih* untuk orang jawadan lain-lain. Ikan yang mempunyai panjang tubuh (SL, *standard length*) 2,0-2,1 kali tinggi tubuh ikan tersebut, serta memiliki panjang tubuh total (dengan sirip ekor) bisa mencapai 1.000 mm. Ikan yang muda memiliki moncong yang meruncing, dengan 8-10 pita melintang (belang) di tubuhnya. Jika beranjak dewasa warna-warna ini memudar, dan kepala ikan akan membengkak secara tidak teratur (Anonim, 2015).

Menurut Bachtiar (2002), dilihat dari morfologi atau bentuk tubuhnya ikan gurame memiliki ciri-ciri sebagai berikut : bentuk badan memanjang dan sedikit pipih ke samping, mulut terletak di ujung tengah (terminal) dan dapat disembulkan (protektil) serta dihiasi dua pasang sungut. Selain itu di dalam mulut terdapat gigi kerongkongan, dua pasang sungut ikan gurameterletak di bibir bagian atas tetapi kadang-kadang satu pasang sungut rudimentee atau tidak berfungsi, gigi kerongkongan (*pharyngeal teeth*) terdiri atas tiga baris yang berbentuk geraham. Menurut Bachtiar (2012) taksonomi ikan gurami adalah sebagai berikut :

Phylum : Chordata
Sub Phylum : Vertebrata
Classis : Pisces
Sub Classis : Teleostei
Ordo : Labyrinthici
Sub Ordo : Anabantoidae
Famili : Anabantidae
Genus : Osphronemus
Species : Osphronemus gouramy (Lacepede)



Gambar 1. Ikan Gurami

Ikan gurami memiliki beberapa jenis, diantaranya yaitu gurami soang (Angsa) dan gurami jepun (Jepang), namun saat ini terdapat beberapa strain gurami baru hal ini dikarenakan adanya perkawinan silang gurami soang dan jepun dan mengalami penyesuaian dengan masing masing daerah.

Jenis-jenis gurami diantaranya adalah :

1. Gurami Soang (Angsa)

Gurami ini disebut gurami soang karena memiliki 2 dahi yang cukup menonjol baik jantan maupun betina. Gurami jenis soang banyak di temukan di daerah Ciamis, Tasikmalaya dan daerah sekitar di Jawa Barat. Bentuk tubuh gurami soang sedikit tinggi memanjang dan pipih ke samping. Panjang tubuh maksimum mencapai 65 cm tinggi tubuh 2-21 kali tinggi pada gurami umumnya, dan memiliki berat sebesar 8 kg. Pada tubuh gurami soang terdapat garis gurat sisi tunggal yang terlihat dengan jelas. Sisik badanya agak membulat berukuran besar, dan berwarna kecoklatan dengan bintik warna hitam di dasar sirip dada.

2. Gurami jepun (Jepang)

Varietas gurami jepun (Jepang) juga sudah lama di kenal di Indonesia. Gurami ini memiliki ukuran tubuh lebih pendek di banding gurami angsa. Panjang tubuh gurami jepun sekitar 45 cm dengan berat tubuh sekitar 3-4 kg. Ketika kecil, tubuh gurami jepun berwarna kebiruan dan berubah menjadi hitam atau agak gelap ketika mulai dewasa. Sisik gurami ini juga lebih kecil dari gurami angsa. Produksi telur gurami jepun berkisar 2.000 – 3.000 butir/ ekor.

Gurami masuk dalam kategori ikan yang diunggulkan oleh perikanan budidaya. Ikan gurami perkembangannya tidak sepesat ikan air tawar lainnya, tetapi ikan gurami tetap menjadi andalan perikanan budidaya karena memiliki nilai jual yang lebih baik dibandingkan dengan ikan air tawar lainnya karena mempunyai kelebihan yaitu mudah dalam pemasarannya. Berdasarkan data statistik 2010, perkembangan ikan gurami sudah mencapai ke hampir seluruh

Indonesia. Sampai saat ini sentra budidaya ikan gurami tidak hanya terdapat di pulau Jawa tetapi terdapat pula di luar Jawa. Berikut ini beberapa 7 provinsi penghasil ikan gurami tertinggi di Indonesia :

1. Jawa barat

Jawa barat menduduki peringkat pertama sebagai penghasil ikan gurami pada tahun 2010 yaitu sebesar 12.970 ton.

2. Sumatra Barat

Tahun 2010, produksi gurami provinsi ini mencapai 10.660 ton. Naik tinggi dibandingkan dengan tahun sebelumnya yang hanya mencapai 6.510 ton.

3. Jawa timur

Produksi ikan gurami Jawa Timur tahun 2010 adalah sebesar 9.525 ton sedangkan produksi di tahun 2009 sebesar 8.425 ton

4. Jawa Tengah

Produksi ikan gurami Jawa Tengah tahun 2010 adalah sebesar 7.475 ton. Naik sekitar 1.300 ton dibandingkan tahun sebelumnya 2009 sebesar 6.145 ton.

5. D.I. Yogyakarta

Ikan gurami yang diandalkan provinsi ini produksinya tahun 2010 mencapai 6.031 ton sedangkan tahun sebelumnya sebesar 2.694 ton

6. Lampung

Gurami pada tahun 2010 produksi mencapai 4.098 ton naik dari tahun 2009 yang sebesar 3.453 ton.

7. Sumatra selatan

Produksi ikan guraminya pada tahun 2010 adalah sebesar 2.518 ton naik sedikit dibandingkan tahun 2009 yang sebesar 2.126 ton, (Kementerian Kelautan dan Perikanan, 2011).

Menurut Rahardjo (1985), sisik diistilahkan sebagai rangka dermis, karena sisik dibuat di dalam lapisan dermis. Selain itu ada juga ikan yang tak bersisik, kebanyakan dari sub-ordo *Siluroidea*, contohnya ikan Jambal (*Pangasius pangasius*). Ikan gurami mengandung beberapa senyawa yang dibutuhkan oleh tubuh, menurut Yogaswari (2009), dalam penelitiannya mengenai karakteristik fisika dan kimia dalam sisik ikan gurami dengan bobot ikan 260-3315 gram diketahui bahwa kandungan dalam sisik ikan gurami sebagai berikut :

Tabel 1. Komposisi Kandungan pada Sisik Ikan Gurami

No.	Komponen	Jumlah
1	Kadar Air	30 - 36.8 %
2	Kadar Abu	18.7 - 26.3%
3	Kadar Lemak	0.1 1.0 %
4	Kadar Protein	29.8 - 40.9%
5	Kadar Karbohidrat	2.0 – 5.7 %
6	Kadar Kitin	0.4 – 3.7 %
7	Kadar Kalsium	5.0 – 8.6 %

Sisik ikan adalah jaringan yang mengandung *osteoblast* dan *osteoclast* seperti yang ditemukan pada tingkat vertebrata yang lebih tinggi, namun regulasi aktivitas sel dalam jaringan masih sedikit diketahui (Rotllant *et al.* 2005). Sisik dibedakan berdasarkan jenis bahan dan bentuknya, sisik dibedakan menjadi :

1. Sisik *placoid*

Terdapat pada ikan yang bertulang rawan (*Chondrichthyes*). Bentuknya hampir mirip dengan dengan bunga mawar dengan dasar yang bulat atau bujur sangkar. Bagian yang menonjol seperti duri keluar dari epidermis.

2. Sisik *cosmoid*, terdapat pada ikan fosil dan ikan primitif. Sisik ini terdiri dari beberapa lapis, dari luar :

- a). *Vitrodentine* (dilapisi semacam *enamel*)
- b). *Cosmine* (lapisan kuat dan non-seluler)
- c). *Isopedine*.

Misalnya : *Latimeria chalumnae*.

3. Sisik *ganoid*, Sisik *ganoid* terdiri dari beberapa lapisan, dari luar :

- a. *Ganoine* (Terdiri dari garan-garam an-organik)
- b. Lapisan yang seperti lapisan *cosmoine*
- c. *Isopedine*, bentuk seperti belah ketupat, misalnya ikan : *Polypterus*, *Lepisostidae*, *Acipencoridae*, *Polyodontidae*

4. Sisik *cycloid*

Disebut juga sisik lingkar, karena mempunyai bentuk bulat, tipis, transparan, dan lingkaran pada bagian belakang bergigi.

5. Sisik *stenoid*

Menurut Rahardjo, (1985) Sisik *cikloid* dan sisik *stenoid* kepipihannya tereduksi menjadi sangat tipis, fleksibel, transparan, dan tidak mengandung *dentine* atau *enamel*. Bagian sisik yang menempel pada tubuh hanya sebagian.

2.2. Enzim Protease

Enzim merupakan unit fungsional dalam metabolisme sel, enzim merupakan sebuah katalis yang mempercepat proses reaksi kimia didalam tubuh dan berlangsung dengan baik (Poedjiadi, 2005).

Menurut Poedjiadi (2005), suatu enzim akan bekerja secara khas terhadap suatu substrat tertentu, kekhasan ini menjadi salah satu ciri dari suatu enzim, misalnya enzim urease hanya akan bekerja terhadap urea sebagai substratnya.

Fungsi suatu enzim adalah sebagai katalis untuk proses biokimia yang terjadi dalam sel maupun di luar sel. Suatu enzim dapat mempercepat reaksi 10^8 sampai 10^{11} kali lebih cepat daripada reaksi tersebut tidak menggunakan enzim sebagai katalis (Poedjiadi, 2005).

Enzim protease adalah enzim yang bekerja sebagai katalis dalam reaksi pemecahan molekul protein dengan cara hidrolisis (Poedjiadi, 2005). Pada proses tersebut yang dipecah adalah ikatan peptida pada rantai peptidase, maka enzim tersebut dinamakan juga peptidase. Ada dua macam peptidase, yaitu endopeptidase dan eksopeptidase. Endopeptidase memecah protein pada tempat-tempat tertentu dalam molekul protein dan biasanya tidak mempengaruhi gugus yang terletak pada ujung molekul. Sebagai contoh endopeptidase adalah enzim pepsin yang terdapat pada usus halus dan papain.

Enzim protease merupakan enzim penting dan memiliki nilai ekonomi yang tinggi karena aplikasinya sangat luas. Contoh industri pengguna enzim protease antara lain industri deterjen, kulit, tekstil, makanan, pengolahan susu, farmasi, bir dan limbah (Moon and Parulekar, 1993). Protease yang digunakan

mencapai 59% dari total enzim yang diperjualbelikan di seluruh dunia (Gaur and Wadhwa, 2008).

Sumber enzim protease yang telah diketahui berasal dari hewan, mikroba, dan tanaman. Tanaman merupakan sumber enzim protease terbesar (43,85%) diikuti oleh bakteri (18,09%), jamur (15,08%), hewan (11,15%), alga (7,42%) dan virus (4,41%) (Mahajan dan Shamkant, 2010). Enzim protease dari tanaman memiliki spesifisitas substrat yang luas, aktivitas dan stabilitas yang tinggi pada berbagai variasi temperatur, pH, ion logam, inhibitor serta pelarut organik. Hal ini membuat protease dari tanaman merupakan pilihan yang sangat baik untuk industri makanan, medis, bioteknologi dan farmakologi (Mehrnous, 2011).

Setiap enzim memiliki aktivitas maksimum pada temperatur tertentu, aktivitas enzim akan semakin meningkat dengan bertambahnya temperatur hingga temperatur optimum tercapai. Kenaikan temperatur di atas temperatur optimum akan menyebabkan aktivitas enzim menurun (Baehaki, 2008).

Protease merupakan enzim yang mengkatalis pemecahan protein, dengan memecah ikatan peptida pada protein sehingga terbentuk asam amino. Saat ini protease dibutuhkan dalam skala tinggi yaitu meliputi dua per tiga dari enzim pasar. Protease banyak dimanfaatkan pada industri makanan maupun non makanan. Kegunaan protease dalam industri berbeda-beda. Dalam industri pembuatan roti, protease digunakan untuk menurunkan kadar protein dalam tepung. Pada industri pembuatan bir, enzim ini digunakan untuk menghilangkan kekeruhan yang terjadi selama penyimpanan bir sedang pada industri tekstil

digunakan untuk menghilangkan serabut pada benang kain untuk mencegah kerusakan saat pemintalan (Smith, 1995).

Menurut Poedjiadi (2005), menyatakan bahwa ada beberapa faktor yang mempengaruhi kerja enzim diantaranya adalah :

- a. Konsentrasi Enzim
- b. Konsentrasi Substrat
- c. Suhu
- d. Pengaruh pH
- e. Pengaruh Inhibitor

Hidrolase adalah enzim yang memerlukan bantuan air dalam proses menguraikan zat. Enzim protease merupakan bagian dari hidrolase, dimana protease bertujuan untuk memecah atau menguraikan protein (Supekta, 2011).

2.3. Kolagen

Kolagen adalah suatu jenis protein yang terdapat pada jaringan ikat. Protein ini mempunyai struktur heliks tripel dan terdiri dari 25% glisin dan 25% prolin dan hidroksi prolin, tetapi tidak mengandung sistein, sistin, dan triptofan (Poedjiadi, 2005). Kolagen juga merupakan komponen struktural utama jaringan ikat putih (*white connective tissue*) yang meliputi hampir 30% total protein pada tubuh. Hinggakini terdapat sekitar 25 tipe kolagen yang telah diidentifikasi, yaitu tipe I sampai XXV (Olsen *et al.*, 2003). Tipe kolagen yang teridentifikasi pada ikan hanya tipe I dan V (Nagai dan Suzuki, 2000).

Kolagen tipe I, II, dan III menyusun mayoritas konten kolagen tubuh. Dari ketiga protein, kolagen tipe I diyakini menjadi yang paling melimpah. Kolagen I

dapat ditemukan dalam banyak struktur tubuh, termasuk tulang, kulit, dan disk intervertebralis. Jenis kolagen umumnya digunakan dalam industri gelatin dan untuk penelitian. Kolagen tipe III, yang dapat ditemukan di kulit, otot, dan dinding usus, telah ditemukan untuk menjadi jenis yang paling melimpah kedua di tubuh. Hal ini sering dikaitkan erat dengan kolagen I. Hal ini karena jenis kolagen ini biasanya ditemukan di tempat yang sama dan mereka disintesis dengan cara yang sama. Tipe kolagen tersebut sering digabungkan untuk membentuk suplemen diambil untuk mempertahankan dan mempromosikan kulit yang sehat, tulang, dan otot (Kristy, 2014).

Kolagen tipe II secara jelas ditemukan di tulang rawan dan juga dalam vitreous humor. Jenis kolagen digunakan untuk pengobatan beberapa kondisi, termasuk radang sendi, selulit, dan keriput. Bila digunakan untuk tujuan ini, sering dikonsumsi secara oral dalam bentuk kapsul. Kolagen V ditemukan didistribusikan di seluruh tubuh dan diyakini menjadi komponen sebagian besar atau semua jaringan ikat (Kristy, 2014).



Gambar 2. Serbuk Kolagen

Eastoe (1977) menerangkan bahwa bahan dasar dan kelompok hewan yang mempunyai sumber kolagen yang tertinggi dan dapat dijadikan gelatin adalah sebagai berikut:

- (a). Tulang: mamalia (sapi, babi, kelinci), burung, reptile, ikan (cod, halibut, elasmobranchs).
- (b). Kulit: mamalia, reptil (buaya, ular), ikan, (elasmobranchs).
- (c). Tulang rawan: burung/ayam, ikan.
- (d). Tendon: burung/ayam.

Tabel 2.Syarat Mutu Kolagen dari Sisik Ikan

No	Jenis Uji	Satuan	Persyaratan
1	Fisika		
	-Benda Asing	-	Tidak ada
2	Kimia		
	-Protein	%	12-14
	-Air	%	Maks.12
	-Abu	%	Maks. 1
	-pH	-	6.5-8
	Logam Berat		
	-Arsen	mg/kg	Maks. 1
	-Kadmium	mg/kg	Maks. 0.1
	-Timbal	mg/kg	Maks. 0.4
	-Merkuri	mg/kg	Maks. 0.5
3	Mikrobiologi		
	- <i>Escherichia coli</i>	APM/gram	<3
	- <i>Salmonella</i>	Per 25 gram	Negatif

(Sumber : Standar Nasional Indonesia No : 8076:2014)

Kolagen dapat diaplikasikan pada industri makanan, kosmetik, biomedis dan industri farmasi. Pada kosmetik, kolagen digunakan untuk mengurangi keriput pada wajah atau dapat disuntikkan ke dalam kulit untuk menggantikan jaringan kulit yang telah hilang. Pada biomedis, kolagen digunakan sebagai *sponges* untuk luka bakar, benang bedah, agen hemostatik, penggantian atau

substitusi pada pembuluh darah dan katup jantung tiruan. Pada industri farmasi kolagen digunakan sebagai *drug carrier* yaitu : *mini-pellet* dan tablet untuk penghantaran protein, formulasi gel pada kombinasi dengan liposom untuk sistem penghantaran terkontrol, bahan pengontrol untuk penghantaran transdermal, dan nanopartikel untuk penghantaran gen (Lee *et al.*,2001).

2.4. Asam Asetat

Asam asetat, asam etanoat atau asam cuka adalah senyawa kimia asam organik yang dikenal sebagai pemberi rasa asam dan aroma dalam makanan. Asam cuka memiliki rumus empiris $C_2H_4O_2$. Rumus ini seringkali ditulis dalam bentuk CH_3-COOH , CH_3COOH , atau CH_3CO_2H . Asam asetat murni (disebut asam asetat glasial) adalah cairan higroskopis tak berwarna, dan memiliki titik beku $16.7^\circ C$. Asam asetat merupakan salah satu asam karboksilat paling sederhana, setelah asam format. Larutan asam asetat dalam air merupakan sebuah asam lemah, artinya hanya terdisosiasi sebagian menjadi ion H^+ dan CH_3COO^- . Asam asetat merupakan pereaksi kimia dan bahan baku industri yang penting. Asam asetat digunakan dalam produksi polimer seperti polietilena tereftalat, selulosa asetat, dan polivinil asetat. Dalam industri makanan, asam asetat digunakan sebagai pengatur keasaman. Di rumah tangga, asam asetat encer juga sering digunakan sebagai pelunak air. Dalam setahun, kebutuhan dunia akan asam asetat mencapai 6,5 juta ton per tahun. 1.5 juta ton per tahun diperoleh dari hasil daur ulang, sisanya diperoleh dari industri petrokimia maupun dari sumber hayati (Anonim, 2015).

Asam asetat diproduksi secara sintetis maupun secara alami melalui fermentasi bakteri. Sekarang hanya 10% dari produksi asam asetat dihasilkan melalui jalur alami, namun kebanyakan hukum yang mengatur bahwa asam asetat yang terdapat dalam cuka haruslah berasal dari proses biologis. Dari asam asetat yang diproduksi oleh industri kimia, 75% diantaranya diproduksi melalui karbonilasi metanol. Sisanya dihasilkan melalui metode-metode alternatif. Menurut Mela (2014) Asam asetat mempunyai sifat fisika dan kimia sebagai berikut :

- a. Bentuk : Cairan
- b. Warna : Tidak berwarna
- c. Bau : Tajam
- d. Nilai pH (50g/l H₂O) : (20°C) 2,5
- e. Kekentalan Dinamik : (20°C) 1,22 mm²/s
- f. Kekentalan Kinematik : (20°C) 1,77
- g. Titik lebur : (17°C)
- h. Titik didih : 116-118°C
- i. Suhu penyalan : 485°C
- j. Titik nyala : 39°C
- k. Batas ledakan : Lebih rendah 4 Vol%, leboh tinggi 19,9 Vol%
- l. Tekanan uap : (20°C) 1,54 hPa
- m. Densitas : (20°C) 1,05 g/cm³
- n. Kelarutan dalam air : (20°C) Dapat larut

2.5. Asam Amino

Asam amino merupakan unit dasar struktur protein. Suatu asam amino α terdiri dari gugus amino, gugus karboksil, atom H dan gugus R tertentu, yang semuanya terikat pada atom karbon α . Atom karbon ini disebut α karena bersebelahan dengan gugus karboksil (asam). Gugus R menyatakan rantai samping (Stryer, 2000).

Berdasarkan polaritas gugus R, asam amino dibedakan menjadi 4 golongan yaitu (1) asam amino dengan gugus-R yang bersifat non polar, seperti alanin, leusin, isoleusin, valin, prolin, fenilalanin, triptopan, dan metionin, (2) asam amino dengan gugus -R polar tidak bermuatan, seperti serin, treonin, tirosin, asparagin, glutamin, sistein dan glisin, (3) asam amino dengan gugus -R bermuatan positif, seperti lisin, arginin, histidin, dan (4) asam amino dengan gugus -R bermuatan negatif, seperti asam aspartat dan asam glutamat (Sumarno, 2002)

Terdapat 20 macam asam amino yang digunakan dalam sintesis protein. Penamaan asam amino dapat disingkat menjadi tiga huruf atau satu huruf. Sebagian protein yaitu asam amino mengalami modifikasi setelah masuk menjadi bagian protein. Misalnya dalam kolagen, gugus hidroksil ditambahkan pada residu prolin sehingga menghasilkan residu hidroksiprolin (Ngili, 2013).

Asam amino merupakan senyawa amfoter, yakni memiliki gugus asam dan juga gugus basa. Karena itu, asam amino dapat membawa muatan listrik total yang tergantung pada sifat larutannya. Muatan yang dibawa suatu molekul mempengaruhi interaksinya dengan molekul lain. Sifat ini dimanfaatkan untuk isolasi dan pemurnian asam amino maupun protein (Ngili, 2013).

Glisin merupakan asam amino yang paling sederhana dan terdapat pada skleroprotein. Pada tahun 1820 Braconnot menemukan glisin dari hidrolisis protein. Prolin adalah asam amino heterosiklik yang dapat diperoleh dari hasil hidrolisis kasein. Kolagen banyak mengandung prolin dan hidroksiprolin (Poedjiadi, 2005).

Pada umumnya asam amino diperoleh sebagai hasil hidrolisis protein, baik menggunakan enzim maupun asam. Asam amino dengan cara ini diperoleh campuran bermacam-macam asam amino untuk menentukan jenis asam amino maupun kuantitas masing-masing asam amino perlu diadakan pemisahan antara asam-asam amino tersebut. Ada beberapa metode analisis asam amino, misalnya metode gravimetri, kalorimetri, mikrobiologi, kromatografi dan elektroforesis. Salah satu metode yang banyak memperoleh pengembangan adalah kromatografi. Macam macam kromatografi ialah kromatografi kertas, kromatografi lapis tipis, dan kromatografi penukar ion (Poedjiadi, 2005).

III METODOLOGI PENELITIAN

Bab ini menguraikan mengenai : (1) Bahan dan Alat Penelitian, (2) Metode Penelitian, dan (3) Deskripsi Percobaan.

3.1. Bahan Dan Alat Penelitian

3.1.1. Bahan-bahan yang digunakan

Bahan baku utama yang digunakan adalah sisik dan tulang dari ikan gurami (*Osphronemus gouramy*). Sisik dan tulang didapatkan dari hasil samping proses *fillet* ikan gurami dengan bobot ikan gurami sekitar 1,5- 2 kilogram. Sisik dan tulang ikan tidak hancur atau masih dalam keadaan utuh dan baik. Bahan baku utama didapatkan dari penangkaran ikan gurami di daerah Munjul Leles Kabupaten Cianjur.

Bahan kimia yang digunakan untuk analisis adalah NaOH , CH₃COOH , NaCl, dan enzim protease didapatkan dari CV. Niaga Inti Yogyakarta yang berasal dari negara Cina.

3.1.2. Alat-alat yang digunakan

Alat-alat yang diperlukan meliputi: pisau, *freezer*, kain kasa 100 *mesh*, spatula, *beaker glass* 1000 dan 500 ml, *aluminium foil*, timbangan analitik, mesin *freeze-dryer* (Eyela Freeze Dryer Sistem).

3.2. Metode Penelitian

Pelaksanaan penelitian dalam pembuatan kolagen dari sisik dan tulang ikan gurami adalah sebagai berikut :

3.2.1. Penelitian

Penelitian dilakukan dengan dua tahap. Tahap pertama dilakukan untuk menentukan konsentrasi enzim protease dan asam asetat terbaik dan tahap ke dua dilakukan untuk menentukan ekstraksi yang terbaik antara menggunakan enzim dan asam asetat.

Pada penelitian tahap pertama yaitu pembuatan kolagen dari sisik dan tulang ikan gurami menggunakan ekstraksi enzimatis dan ekstraksi kimia dengan konsentrasi yang beragam. Konsentrasi enzim yang digunakan adalah 1 %, 1,5%, dan 2% berdasarkan berat/volume dan konsentrasi asam asetat adalah 0,25 M, 0,5 M, dan 0,75 M, serbuk kolagen yang dihasilkan dengan percobaan penelitian utama kemudian dilakukan pengujian yang meliputi kadar abu.

Penelitian tahap ke dua dilakukan untuk menentukan kolagen terbaik dengan menggunakan dua cara ekstraksi. Ekstraksi pertama menggunakan ekstraksi enzimatis dengan konsentrasi enzim terbaik pada penelitian pertama dan ekstraksi kedua menggunakan asam asetat dengan konsentrasi terbaik pada penelitian pertama dengan beberapa parameter yaitu kadar protein, nilai pH, kadar air serta rendemen.

3.2.2. Rancangan Perlakuan

Penelitian utama terdiri dari dua faktor, yaitu faktor ekstraksi menggunakan enzim (A) terdiri dari tiga taraf, yaitu $a_1 = 1\%$, $a_2 = 1,5\%$, dan $a_3 = 2\%$, dan faktor ekstraksi kimia dengan asam asetat (B) terdiri dari tiga taraf, yaitu $b_1 = 0,25 \text{ M}$, $b_2 = 0,5 \text{ M}$, dan $b_3 = 0,75 \text{ M}$.

Berdasarkan rancangan diatas maka dapat dibuat denah (*Layout*) percobaan

Tabel 3. Denah (*Layout*) Pembuatan kolagen kering

Kelompok Ulangan I

a ₁	a ₂	a ₃	b ₁	b ₂	b ₃
----------------	----------------	----------------	----------------	----------------	----------------

Kelompok Ulangan II

a ₁	a ₂	a ₃	b ₁	b ₂	b ₃
----------------	----------------	----------------	----------------	----------------	----------------

3.2.3. Rancangan Analisis

Rancangan analisis yang dilakukan adalah dengan membandingkan nilai dari parameter yang dilakukan yaitu kadar abu, kadar protein, kadar pH, kadar air serta rendemen yang dihasilkan sehingga akan didapatkan perlakuan terbaik antara ekstraksi enzimatis dan ekstraksi kimia.

3.2.4. Rancangan respon

Respon yang akan diuji pada penelitian ini adalah respon kimia, meliputi :

- a. Kadar Abu, pengujian dengan metode gravimetri.
- b. Kadar Protein, pengujian kadar nitrogen menggunakan metode Kjehdal.
- c. Kadar pH, menggunakan pH meter.
- d. Kadar Air, pengujian kadar air menggunakan metode Gravimetri.
- e. Kadar Rendemen

3.3. Deskripsi Percobaan

3.3.1. Deskripsi Penelitian

Penelitian pada percobaan ini adalah untuk menentukan konsentrasi enzim protease terbaik pada ekstraksi enzimatis dan konsentrasi asam asetat terbaik pada ekstraksi kimia. Setelah didapatkan konsentrasi terbaik dari enzim dan asam asetat selanjutnya akan dilakukan analisis kadar protein, nilai pH, kadar air, rendemen untuk menentukan cara ekstraksi mana yang lebih baik antara ekstraksi dengan enzimatis atau dengan asam asetat. Deskripsi pembuatan kolagen dari sisik dan tulang ikan gurami adalah sebagai berikut :

a. Persiapan bahan

Persiapan bahan meliputi persiapan bahan baku yaitu sisik dan tulang ikan gurami. Bahan baku disortir terlebih dahulu sesuai dengan keperluan, yaitu sisik dan tulang ikan dalam keadaan baik, kemudian dilakukan pencucian agar tidak ada benda lain masuk yang tidak diinginkan, untuk sisik ikan gurami hanya dilakukan pencucian dengan air bersih sedangkan tulang ikan gurami dilakukan perlakuan pendahuluan terlebih dahulu.

b. Perlakuan pendahuluan (*pre-treatment*) terhadap tulang ikan gurami

Tulang ikan gurami dilakukan perlakuan khusus terlebih dahulu. Tulang ikan gurami dilakukan *degreasing* atau perebusan terlebih dahulu dalam suhu 80°C selama 30 menit karena tulang ikan mempunyai struktur yang keras. Setelah direbus selanjutnya ikan gurami dikeringkan dengan suhu 50°C selama 30 menit lalu dilakukan pengecilan ukuran tulang ikan gurami.

c. Penambahan NaOH 0.1 M

Setelah sisik ikan dan tulang gurami dilakukan beberapa perlakuan selanjutnya sisik dan tulang ikan gurami dicampurkan dan ditambahkan NaOH 0,1 M selanjutnya didiamkan selama 24 jam dengan suhu 28⁰C.

d. Pencucian

Setelah dilakukan penambahan NaOH 0,1 M, maka selanjutnya sisik dan tulang ikan gurami dilakukan pencucian dengan air, bertujuan agar produk tidak terkontaminasi.

e. Ekstraksi

Setelah dilakukan pencucian, maka sisik dan tulang ikan gurami tersebut akan diekstraksi. Ekstraksi enzimatis dengan menggunakan enzim protease sedangkan ekstraksi kimia menggunakan asam asetat. Enzim protease merupakan enzim yang stabil, tahan terhadap perubahan pH dan suhu, memiliki pH optimum 5-7 dan suhu optimum 28⁰C. Penambahan enzim protease dilakukan setelah penambahan NaOH 0.1 M selanjutnya dilakukan penambahan enzim protease dengan konsentrasi enzim 1%, 1,5%, dan 2% dengan pH 6 dengan suhu 28⁰C. Metode ekstraksi kimia menggunakan asam asetat dilakukan dengan konsentrasi asam asetat yang berbeda yaitu 0,25 M, 0,5 M, dan 0,75 M.

f. Penyaringan

Setelah dilakukan ekstraksi maka dilakukan penyaringan dengan kain kasa dengan mesh 100 selanjutnya akan didapatkan filtrat.

g. *Salting out*

Setelah didapatkan filtrat maka selanjutnya filtrat tersebut dilakukan proses *salting out* menggunakan NaCl 0,9 M selama 1 hari sampai dengan suhu ruang.

h. Penyaringan

Setelah dilakukan *salting out* selanjutnya disaring dengan kain kasa dengan ukuran mesh 100 dan akan didapatkan endapan kolagen.

i. Dialisis

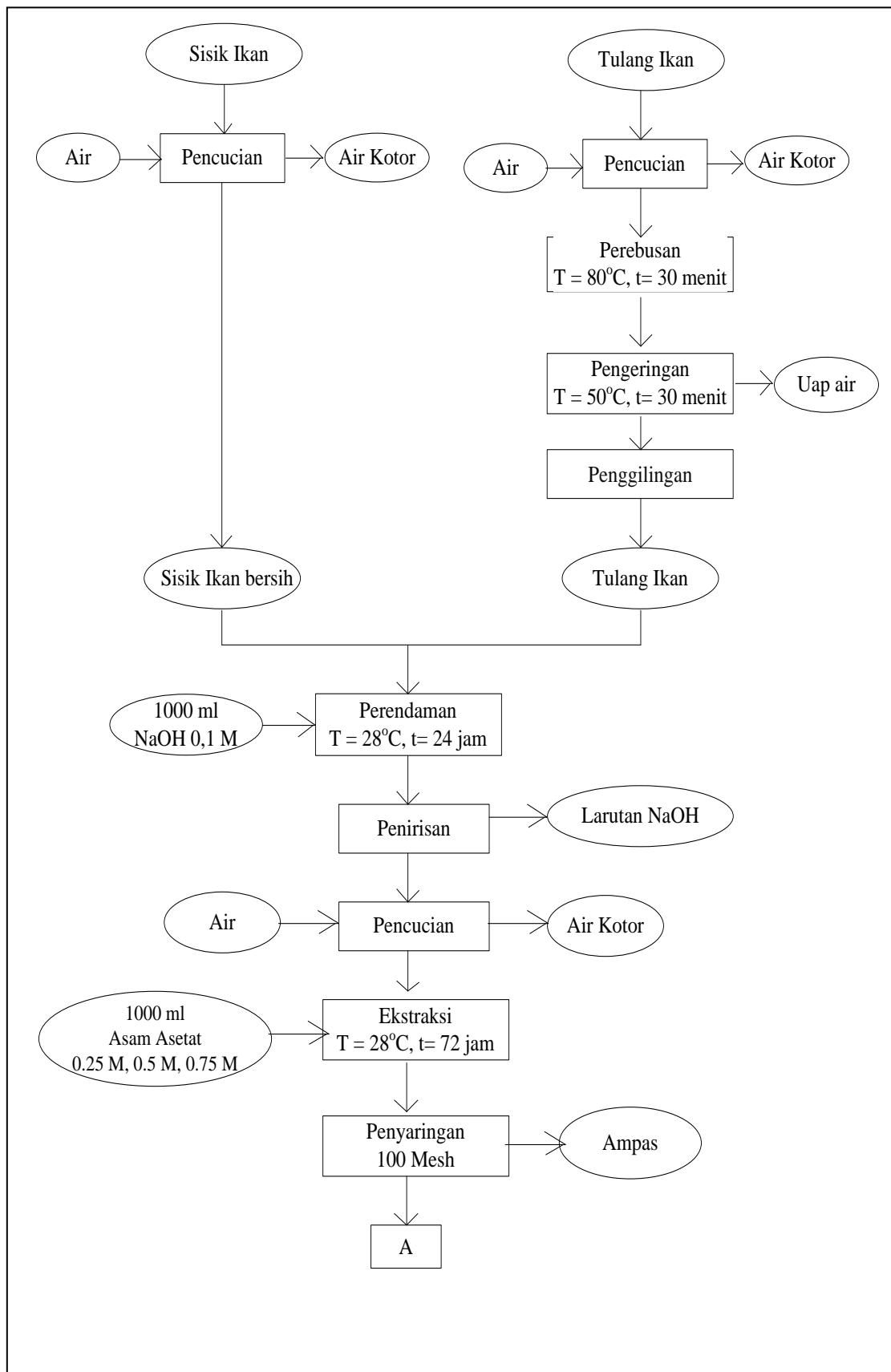
Setelah dilakukan penyaringan maka dilakukan dialisis dengan asam asetat 0,1 M selama 12 jam.

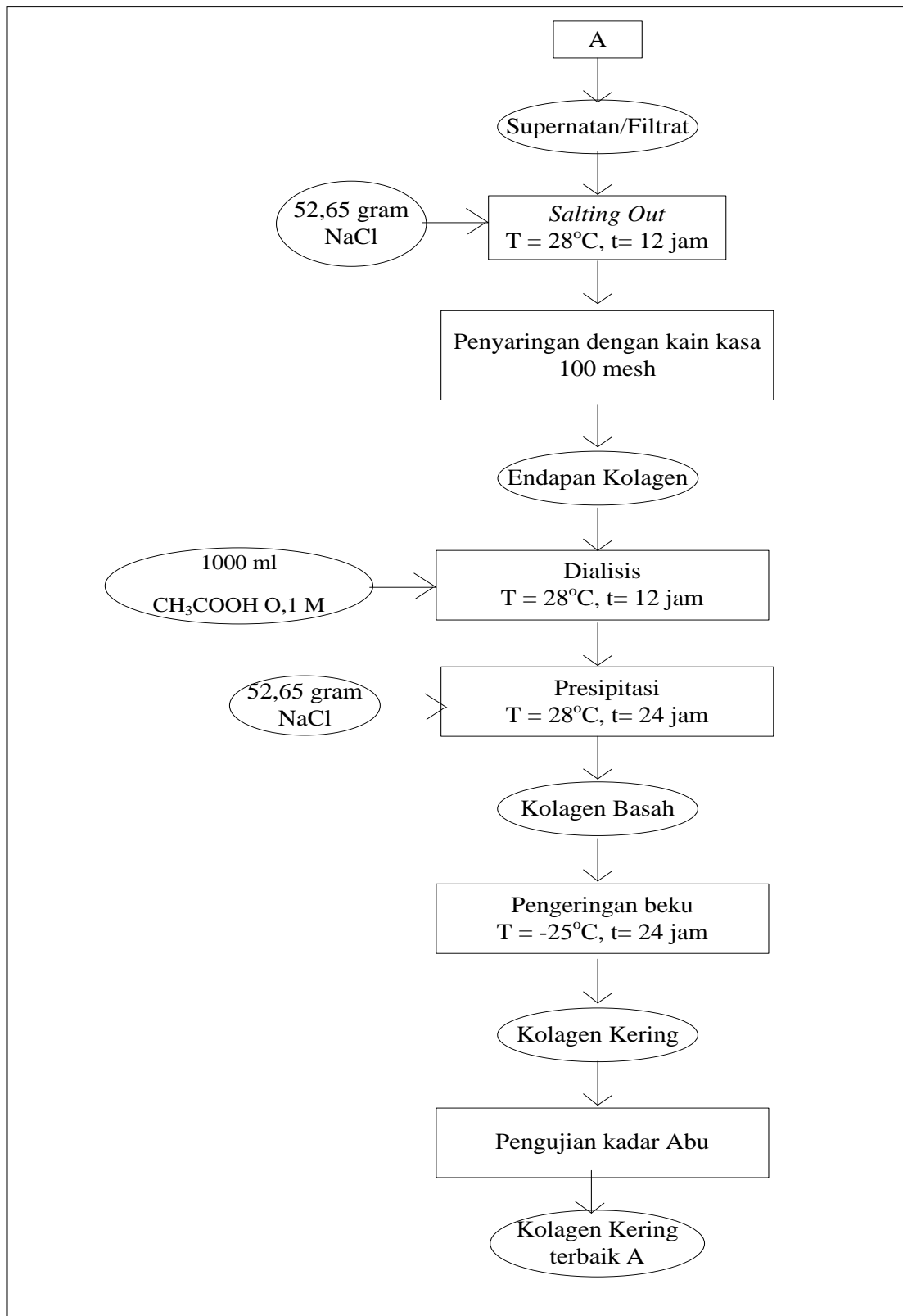
j. Presipitasi

Presipitasi dengan NaCl selama 1 hari supernatan hingga 0,9 M dengan suhu 28°C dan akan didapatkan kolagen basah.

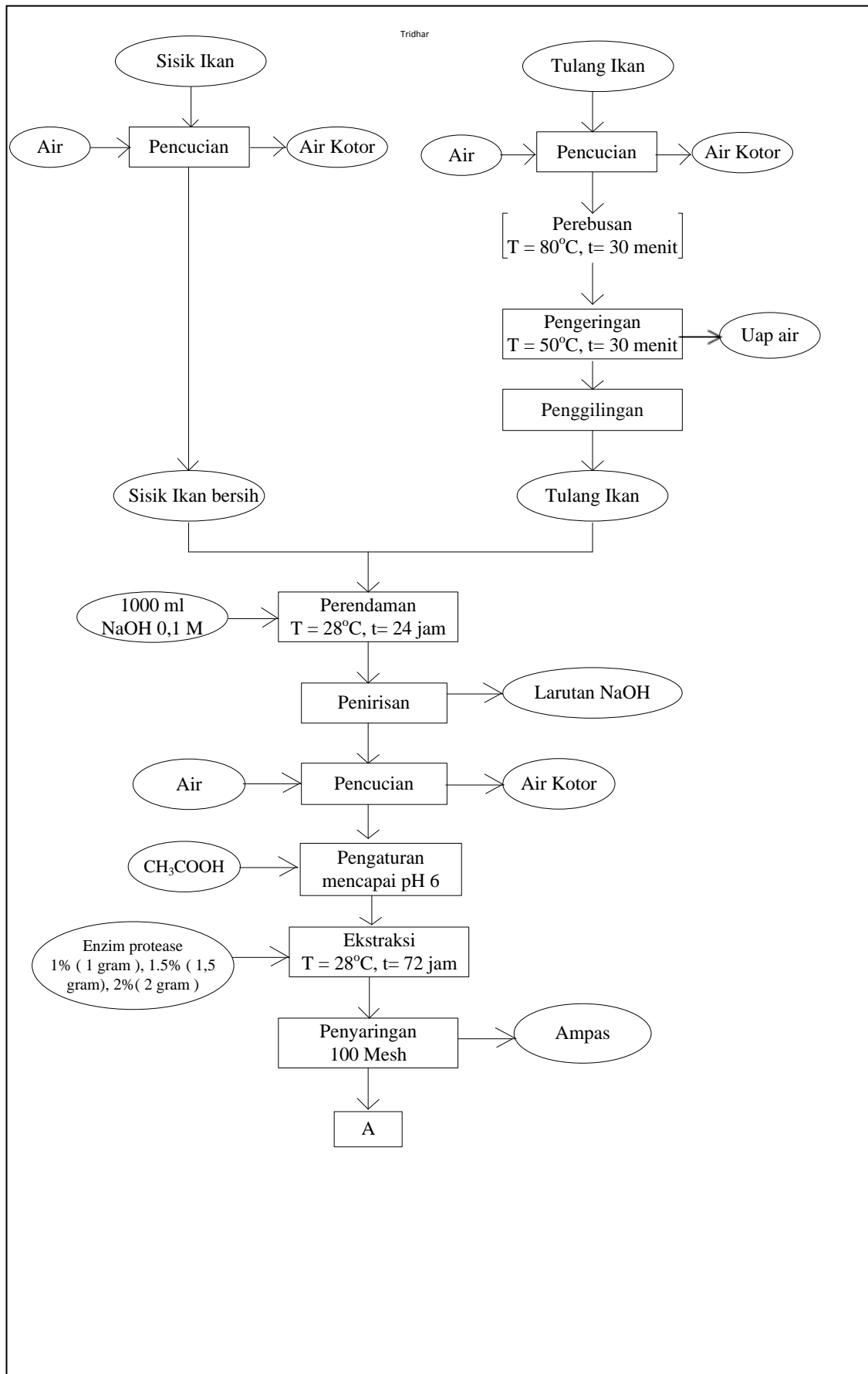
k. Pengeringan beku

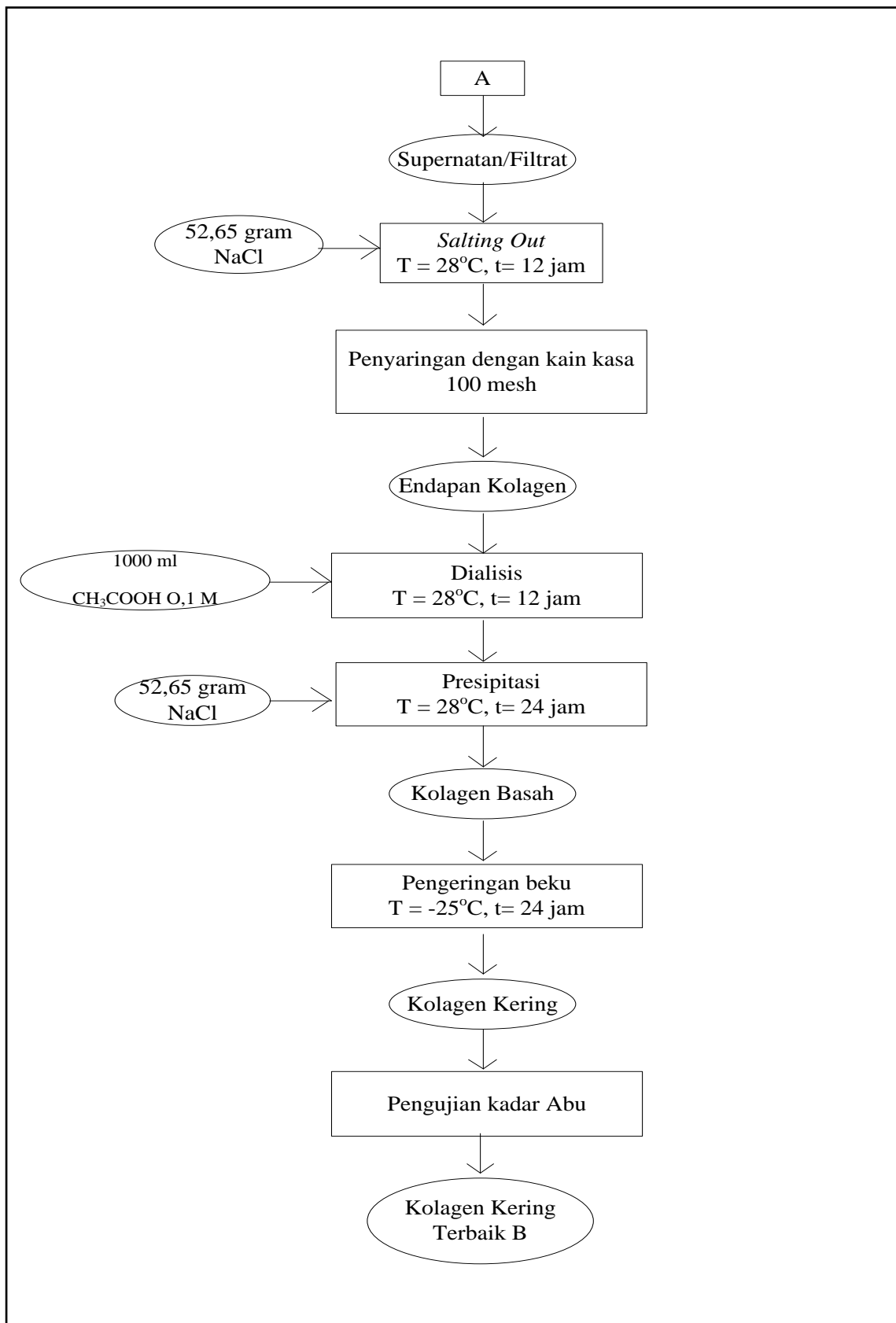
Setelah didapatkan kolagen basah maka dilakukan pengeringan beku dengan alat *freeze drier* selama satu hari sehingga kolagen basah akan menjadi kering dan menjadi serbuk kolagen. Setelah didapatkan kolagen kering kemudian dilakukan pengujian kimia yaitu pengujian kadar abu terhadap kolagen serbuk dan akan didapatkan serbuk kolagen terpilih. Kolagen terpilih selanjutnya akan dilakukan pengujian kadar protein, air, rendemen, dan pH. Hasil analisis tersebut selanjutnya dibandingkan dan akan didapatkan proses ekstraksi terbaik.



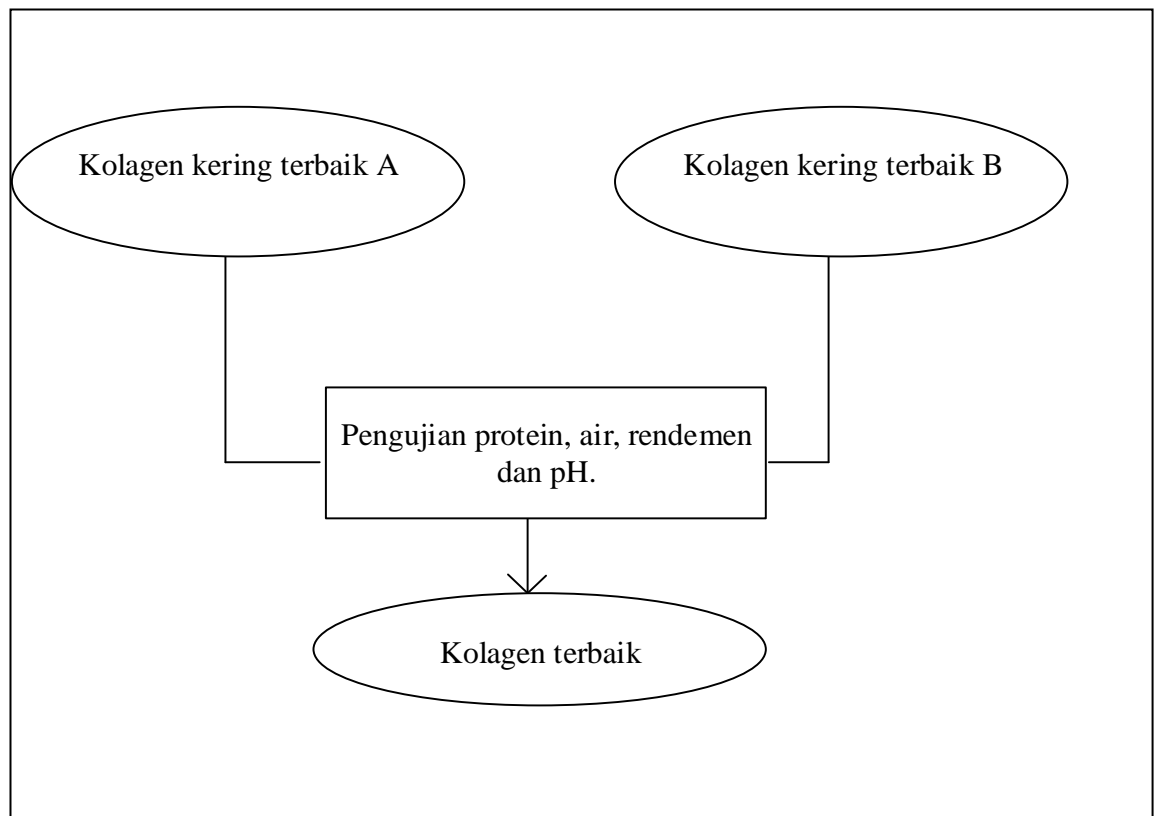


Gambar 3. Diagram Alir Pembuatan Kolagen Ikan gurami Menggunakan Metode Ekstraksi Kimia Pada Penelitian Utama





Gambar 4. Diagram Alir Pembuatan Kolagen Ikan gurami Menggunakan Enzim Pada Penelitian Utama



Gambar 5. Diagram Alir Perbandingan analisis

